DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2017.06.001

食品有害物苯并(α)芘及其诱导细胞死亡的研究进展

袁 莉， 高春霞， 邓 红， 刘俊义
(陕西师范大学 食品工程与营养科学学院,陕西 西安 710119)

摘要：苯并(α)芘(Benzo-a-pyrene,BaP)是一种常见的油脂加工过程中产生的主要有害产物，由于其致癌、致畸、广分布的特点,近年来备受学者关注。作者综述了近些年国内外对 BaP 损伤机体细胞的作用机制,总结为其主要通过诱导细胞 DNA 损伤、线粒体功能障碍、氧化应激、自噬性损伤及炎症反应损害机体损伤。细胞焦亡是一种依赖半胱天冬酶-1 并伴有大量炎症因子释放的细胞死亡方式。但苯并(α)芘对细胞焦亡作用的影响还不确定,有待进一步研究论证。深入揭示食品有害物质苯并(α)芘的毒性机制对其危害干预和构建全面有效的食品安全控制体系具有重要意义。

关键词：苯并(α)芘;DNA;线粒体功能障碍;氧化应激;细胞自噬;细胞焦亡
中图分类号:R 155.5　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1673—1689(2017)06—0561—08

Progress in Research of the Cell Death Induced by Benzo(α) Pyrene

YUAN Li, *GAO Chunxia*, *DENG Hong*, *LIU Junyi*
(College of Food Engineering and Nutritional Science, Shanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: Benzo-a-pyrene(BaP) is a kind of common harmful substances which is produced during the processing of plant oil. BaP has attracted significant attention due to its carcinogenicity, teratogenesis and widely distributing. The injurious effects of BaP on cells are reviewed in this paper. BaP can cause body tissue damage through inducing DNA damage, mitochondrial dysfunction, oxidative stress, autophagy and inflammatory response. Pyroptosis is a way of cell death which is dependent on the caspase-1 with the release of inflammatory factors. However, the effect of BaP on pyroptosis remains unknown. To further reveal the cytotoxicity mechanisms of BaP has an important scientific significance to the targeted intervention and the establishment of comprehensive and effective food safety control system.

Keyword: benzo-a-pyrene, DNA, mitochondrial dysfunction, oxidative stress, autophagy, pyrotosis

收稿日期: 2016-10-20
基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31501584);陕西师范大学中央高校基本科研业务费专项项目(GK201503071)。
作者简介: 袁　莉(1986—),女,甘肃景泰人,工学博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事食品营养与安全方面研究。
E-mail:yuanli112086@snnu.edu.cn
引用本文: 袁莉,高春霞,邓红,等. 食品有害物苯并(α)芘及其诱导细胞死亡的研究进展[J]. 食品与生物技术学报,2017,36(06):561-568.

食品安全关乎人类生命健康及生存发展,是世界各国备受关注的民生问题之一。其中,苯并(α)芘引发的食品安全问题最为严重、常见和广泛[1]。BaP主要在食品熏、炸、烧、烤加工过程中,由脂肪和淀粉等有机物高温裂解产生,具有极强的细胞毒性、致癌性、致突变性和免疫毒性等;再者,苯并(α)芘是生产和生活环境中最常见的化学污染物之一,可通过空气、土壤、水等媒介污染食物[2-6]。调查显示,食品有害物 BaP 引起的疾病发病率占机体总发病率的第二位,已成为全球重要的食品安全问题之一[7]。因此,除宏观政策制约外,充分认识 BaP 的毒性机制,对其危害干预和构建全面有效的食品安全控制体系具有重要的科学意义。

1 苯并(α)芘及其性质

苯并芘是苯与芘稠合而形成的一类多环芳烃。根据稠合位置不同,可以有苯并(α)芘和苯并(e)芘两种异构体,最常见的就是苯并(α)芘。苯并(α)芘(Benzo(α)pyrene,B[α]P,BaP),是一种常见的高活性间接致癌物和突变原[8-9],其分子式为 $C_{20}H_{12}$,相对分子质量为 252.32,熔点为 179 ℃,沸点为 475 ℃,不溶于水,微溶于乙醇,易溶于苯、甲苯等芳香族化合物。苯并芘在常温下为无色伴有淡黄色针状晶体,碱性条件下稳定,对氯、溴等卤族元素亲和力较强。在 360 nm 紫外照射下可产生紫色荧光[10]。

2 苯并(α)芘的来源及危害

BaP 是食品加工过程中产生的有害物,严重威胁机体健康。食品中苯并(α)芘来源有两条途径,其中烹饪方式(熏、炸、烧、烤)是导致食品产生 BaP 的主要途径。在熏、炸、烧、烤过程中,食物中的脂肪、胆固醇、淀粉等有机物会在高温条件下发生热裂解反应,再经过环化和聚合反应形成苯并芘[11-12],见图 1,并且焦糊食物中的苯并芘含量是普通食物的 10~20 倍[14]。另一方面,工业生产和生活过程中煤炭、石油、天然气等燃料不完全燃烧也可产生大量富含 BaP 的废弃物[15],包括汽车尾气、橡胶生产以及吸烟产生的烟气等,透过水源、大气和土壤传播,进入到蔬菜、水果、粮食、水产品、肉类和饮用水等人类赖以生存的食物中[16-19]。BaP 进入体内后被肠道吸收,经血液循环遍布于机体各个部位,可在乳腺、脂肪组织、胎盘部位蓄积,它是导致机体病变和诱发癌症的强烈物质之一[20]。多个国家相继采用 9 种动物模型(包括小鼠、大鼠、鱼类、兔子等)通过多种给药途径(经口、皮、吸入、腹下注射等),作用多个组织器官(如肺,胃,肝脏,脾,食管,舌,皮肤等),结果都得到了诱发癌症的阳性报告[21]。自此,世界卫生组织国际癌症研究机构将苯并(α)芘列为第一类“人类致癌物”[22]。除强致癌性外,BaP 还具有免疫毒性、神经毒性、生殖毒性等危害[23-25]。

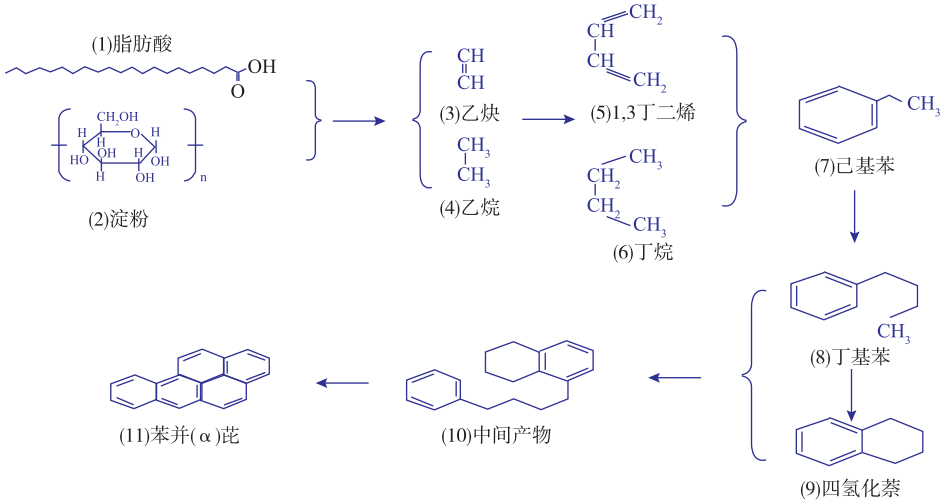


图 1 BaP 合成过程[13]

Fig. 1 Benzo(α)pyrene synthesis process

3 苯并(α)芘损伤机体细胞的作用机制

3.1 导致细胞 DNA 损伤

DNA 是生物体内最重要的遗传物质，保持其自身一定的稳定性对维护细胞稳态环境至关重要。DNA 损伤是导致基因突变、细胞死亡、癌变的关键因素之一。王春光、王克坚等人通过彗星实验检测不同浓度 BaP 对真鲷鱼细胞 DNA 的影响，发现 DNA 的损伤程度与 BaP 剂量呈正相关，且在 4~24 h 内，随着时间增加，DNA 损伤程度也不断加深[26]。陈曌君等人也研究发现，BaP 能损伤子宫颈癌 Hela 细胞 DNA 应答[27]。BaP 损伤 DNA 的途径主要为与 DNA 形成加合物，或导致 DNA 发生畸化修复进而干扰 DNA 的复制与转录，具体过程见图 2。此外，Jiang 等人研究发现，BaP 对细胞 DNA 的损伤作用可能与胞内 P53 基因有关。P53 基因是一种肿瘤抑制基因，由它转录表达出的蛋白质具有调控 DNA 复制和修复的功能。Jiang 等人采用不同浓度 BaP 分别作用正常胎儿肺纤维细胞（MRC-5）、P53 缺失胎儿肺纤维细胞（MRC-5P53-/-）和 P53 部分缺失型人肺癌细胞（HI299），经彗星电泳技术检测发现含有 P53 基因的细胞的 DNA 尾矩较 P53 基因缺失和 P53 基因部分缺失的细胞 DNA 尾矩大，即 DNA 损伤程度严重[31]。Krais 等人在 BaP 损伤小鼠细胞实验中也得到了相似的结果，证明了 BaP 导致细胞 DNA 损伤与 P53 基因有一定的关系[32]。然而，目前就 P53 基因如何促进 BaP 损伤细胞 DNA 鲜有报道，有待深入探究。

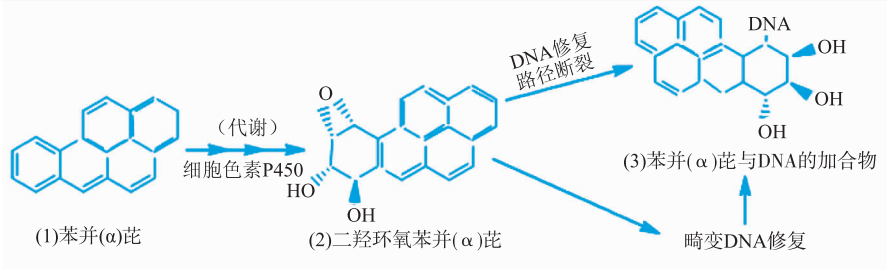


图 2　BaP 对 DNA 损伤的过程[28-30]

Fig. 2　Process of benzopyrene on DNA damage

3.2 导致细胞线粒体等细胞器损伤

线粒体是真核细胞内具有双层膜结构的细胞器，它的外膜光滑，内膜向内延伸形成嵴，是细胞降解糖类和脂肪产生能量的工厂[33]。线粒体在细胞生长、增殖分化和死亡等生命活动中扮演着重要的调控者的角色，它被认定为许多药物毒性的重要靶标，即细胞生存死亡很大程度上取决于线粒体的功能状态[34]。Ko 等人研究发现，用 0、1、2.5、5 μmol/L 的 BaP 诱导小鼠肝癌细胞 Hepa1c1c7 后，发现随着 BaP 的浓度增加，细胞线粒体膜电位不断降低，比较线粒体内外的细胞色素 c 发现，线粒体细胞色素 c 从线粒体内转移到细胞胞液中，从而导致细胞线粒体功能性障碍[35]。孙政等人的研究也发现，用 1.0、10、50 μmol/L 的 BaP 作用人支气管上皮细胞 BEAS-2B 后，细胞线粒体膜电位随着 BaP 浓度逐渐降低，线粒体 Cyt-b 基因的 mRNA 表达在 24 h 和 48 h 内随着 BaP 浓度增加不断升高。而线粒体 Cyt-b 和线粒体 Cyt-c 组成的复合物是真核生物线粒体呼吸链质子转运的关键成分之一，Cyt-b 在氧化刺激下，会造成其 mRNA 含量的代偿性增多[36]。由此可见，BaP 可导致机体细胞线粒体的损伤。线粒体损伤导致细胞凋亡一般是通过线粒体通路进行的。而线粒体凋亡通路又是由 bcl-2 蛋白和 bax 家族蛋白进行调控的[37]。Jiang 等人分别用 0、8、16、32、64 μmol/L 的 BaP 分别作用于人肺细胞 MRC-5，运用蛋白质免疫印记法测得细胞内 Bcl-2 蛋白质和 Bax 蛋白质含量，发现随着 BaP 浓度升高，Bcl-2 蛋白和 Bax 蛋白含量逐渐升高，与 BaP 呈剂量依赖关系[31]。Das 等人对此也做了研究，发现 BaP 处理的小鼠皮肤细胞与正常皮肤细胞相比，Bcl-2 蛋白和 Bax 蛋白表达量有所增加，线粒体跨膜电位增加，细胞线粒体体积减小，说明 BaP 摄入后通过线粒体凋亡通路，造成细胞线粒体障碍最终导致细胞死亡[38]。但 BaP 进入机体后如何作用于线粒体，是损伤线粒体膜还是进入线粒体内破坏呼吸链平衡目前还不是很清楚。此外，如图 3 所示，BaP 还可以导致其他细

胞器(如高尔基体、内质网、溶酶体)的损伤[39],但其损伤机制尚不明确。仅 Khaniyan 等[40]发现 BaP 可通过降低橙色斑点石斑鱼体内溶酶体膜稳定性、总红细胞和白细胞数量、溶解酵素活性、免疫球蛋白水平和抗菌活性抑制石斑鱼的免疫功能。

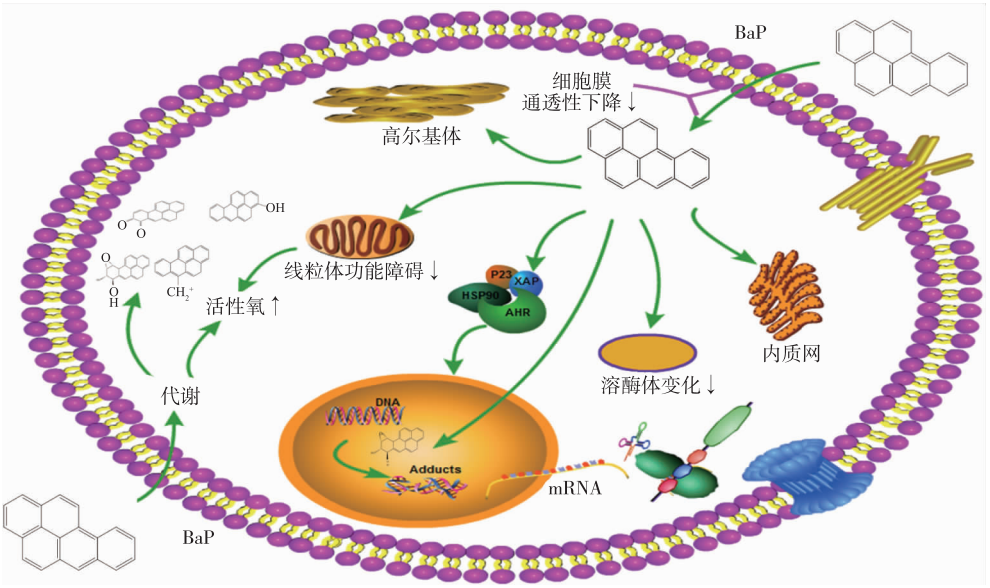


图 3　BaP 对细胞器内各细胞器的损伤

Fig. 3　Benzopyrene on each organelle's damage in the organelles

3.3　苯并(α)芘导致细胞氧化应激

活性氧(ROS)是机体内细胞呼吸和能量代谢时由氧形成的、具有未配对电子的氧原子或原子团的一类物质的总称。主要包括超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)、羟自由基(·OH)、单线氧($^1O_2$)、以及由此衍生的烷过氧自由基(ROO·)、烷氧自由基(RO·)等[41]。在机体内,ROS 产生的主要途径有两类:一是线粒体呼吸链氧化磷酸化过程活性氧泄露;二是外源性物质导致的,如病原体、促炎细胞因子和重金属等。当细胞受到内外环境刺激后,线粒体会产生大量的 ROS,大量的 ROS 会影响线粒体呼吸链复合物的活力,从而影响线粒体的氧化磷酸化,再经过一系列的反应生成更多的 ROS,最终造成 ROS 的积累形成恶性循环[42]。除此之外,ROS 还可以直接攻击生物大分子如蛋白质、脂质等物质,造成细胞内抗氧化物酶活性水平降低,从而破坏机体氧化与抗氧化系统之间的平衡,最终导致细胞氧化应激性损伤。Deng 等人研究发现 PM 2.5(含有 BaP)可导致人肺上皮细胞 A549 产生大量的活性氧,且在 0~4 h 内随着作用时间和 BaP 浓度的增加,ROS 的产生量逐渐增加[43]。Holme 等人研究表明,BaP(0、0.05、5、20 μmol/L)可以明显增加小鼠肝癌细胞 Hepa1c1c7 和大鼠肝细胞 F258 内 ROS 的产生量,且随着 BaP 浓度的升高,ROS 的产量逐渐升高[44]。本研究团队利用 ROS 特异性荧光标记 H2DCFDA 借助流式细胞仪和荧光显微镜检测细胞内 ROS,H2DCFDA 本身无荧光性,但在细胞内氧化剂的作用下,被氧化生成为高荧光强度的 DCF,因此细胞内 ROS 水平的高低与荧光强度的大小成正比。研究发现,BaP 可显著增加 HL-7702 人肝细胞内活性氧,见图 4。由此可见,BaP 能够干扰机体内的氧化-抗氧化系统,致使抗氧化物质和酶类过度消耗,继而引起氧化系统失衡,产生大量 ROS 造成机体长期处于过度氧负荷状态,进而紊乱细胞内蛋白质合成、DNA 合成转录等各项生命活动。除此外,由于线粒体是 ROS 产生的主要场所之一,所以当 BaP 进入细胞内导致细胞线粒体损伤后,也会导致细胞大量释放 ROS,进一步加剧细胞氧化应激,加速细胞死亡。BaP 除了能单独引起细胞内的氧化应激,当与一些其他物质同时使用时,可能会加强 BaP 的诱导细胞氧化损伤。Chen 等人研究发现,人肺癌细胞 A549 分别单独加入 BaP 和 As_2O_3,与同时加入 BaP 和 As_2O_3 都会导致细胞内发生氧化应激,但同时加入 BaP 和 As_2O_3 比单独加入 BaP 和 As_2O_3 相比,细胞活性显著降低,细胞

内 ROS 含量明显增多，细胞内谷胱甘肽(GSH)与超氧化物歧化酶(SOD)含量明显减少[45]。目前，有关 BaP 导致氧化应激方面的研究主要集中于胞内 ROS 水平检测和抗氧化酶活性的测定，但线粒体呼吸链作为体内 ROS 主要产生部位，BaP 对线粒体呼吸链功能及其复合物活性的影响还需深入探究。

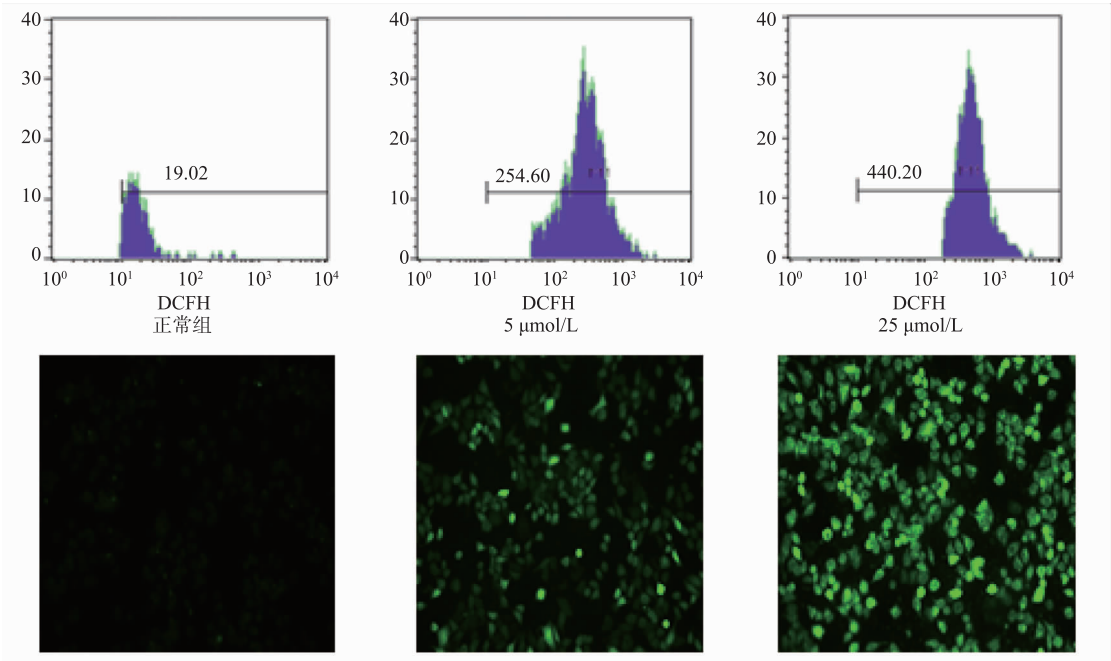


图 4　BaP 可显著增加 HL–7702 人肝细胞内活性氧

Fig. 4　Benzopyrene results in an increase in ROS of HL–7702 live cells

3.4　苯并(α)芘导致细胞自噬性损伤

细胞自噬(Autophagy)也称为Ⅱ型程序性细胞死亡，是真核细胞所共有的降解胞内异常和过多细胞器、蛋白质实现细胞自身代谢所需和细胞器更新。大量研究表明，生长因子缺少、氧化应激、缺氧、辐照、抗癌药物治疗等不良刺激，均会诱发细胞自噬，致使胞内细胞器或蛋白质过度降解，甚至细胞死亡[46–47]。细胞自噬在哺乳动物体内功能非常复杂，它与细胞生存、生长、死亡密切相关。Gannon 等人研究发现，香烟烟雾(包含有 BaP)可以导致小鼠粒层细胞发生自噬现象，细胞内出现大量自噬泡[48]，见图 5。Gorria 等人研究发现用 50 μmol/L BaP 处理大鼠肝细胞后，与对照组相比细胞内溶酶体的形态体积增大且 pH 升高，进而激活 caspase–3，诱发细胞过度自噬，最终引起细胞死亡[49]。细胞自噬的增加往往伴随着 AKT、mTOR、P70S6 信号通路的磷酸化而产生[50]，但是 BaP 是否通过介导以上单个还是多个或者未知信号通路诱发细胞自噬性死亡还有待进一步研究。

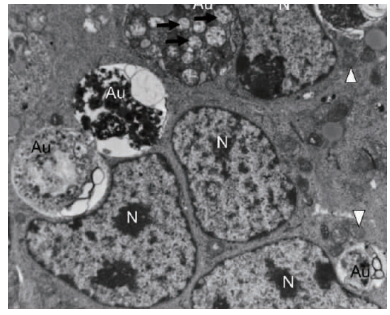


图 5　BaP 诱导细胞产生自噬泡[48]

Fig. 5　Benzopyrene induced cells to product autophagic vacuole

3.5　苯并(α)芘与细胞焦亡性损伤

细胞焦亡(Pyroptosis)是近年来在弗氏志贺氏杆菌感染的巨噬细胞中发现的一种新的不同于细胞凋亡和细胞自噬的程序性细胞死亡方式。这种细胞死亡方式依赖于半胱天冬酶–1(caspase–1)发生，并伴有大量促炎症因子(例如 COX–2、IL–1β、IL–18 等)的释放[51]。细胞焦亡在形态学特征上表现与细胞凋亡相似，但与之不同的是细胞焦亡后细胞膜完整

性将不复存在,胞内物质会大量流出,进而引发机体炎症反应[52]。细胞焦亡和细胞的炎症反应密切相关,BaP 可以引起细胞产生炎症因子,进而诱导炎症反应。例如,当人肺泡 A549 细胞暴露在 20 μmol/L BaP 下时,细胞会大量产生 IL-1β 和 TNF-α 等炎症因子,进而导致细胞发生炎症反应[53]。Hu 等人发现 10-5M BaP 可显著增加人的皮脂腺细胞 SZ95 内 IL-6 含量[54]。Laknaur 等人也研究发现,Long-Evans 大鼠口服含有不同浓度 BaP 的花生油后,其子宫肌层细胞中 IL-1β、IL-8、TNF-α、COX-2 水平随 BaP 含量增加而增强[55]。是否 BaP 诱导产生的炎症因子是细胞焦亡参与调控的结果,是否 BaP 能通过诱发细胞焦亡损伤机体健康,以及细胞焦亡与其他程序性细胞死亡之间的关系也需进一步探究。

4 展 望

民以食为天,食以安为先。作为一种危害极强且广泛存在的食品有害物,苯并(α)芘对人体健康的威胁众所周知且备受关注。深入、全面认识 BaP 的毒性机制,对保障人类健康具有重大民生意义。目前,测定食品中苯并(α)芘含量的方法也日益先进和完善[56]。有研究发现,BaP 进入机体后导致细胞损伤的方式有很多,主要通过损伤 DNA、造成细胞线粒体功能性障碍损伤、提高组织细胞活性氧(ROS)释放、造成细胞自噬性损伤等方式进行。随着生物奥秘的不断揭露,细胞自噬和细胞焦亡等新的细胞死亡方式被发现,BaP 引起细胞发生自噬性死亡的信号通路机制和它能否导致细胞焦亡,且诱发细胞焦亡的分子机制尚不明了。鉴于 BaP 对组织细胞的高毒性伤害,深入探究其毒性机制对建立 BaP 高效完善的控制措施具有理论意义。

参考文献:

[1] LIOY P,GREENBERG A. Factors associated with human exposures to polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. **Toxicology and Industrial Health**,1990,6(2):209-223.

[2] GUERREIRO C B B,HORALEK J,DE LEEUW F,et al. Benzo (a)pyrene in Europe:ambient air concentrations,population exposure and health effects[J]. **Environmental Pollution**,2016,214:657-667.

[3] ABEL S,NEHLS T,MEKIFFER B,et al. Heavy metals and benzo [a]pyrene in soils from construction and demolition rubble[J]. **Journal of Soils and Sediments**,2015,15(8):1771-1780.

[4] ABIDIN N N Z,SANAGI M M,IBRAHIM W A W,et al. Portable micro-solid phase extraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples[J]. **Analytical Methods**,2014,6(15):5512-5518.

[5] ABRAMSSON-ZETTERBERG L,DARNERUD P O,WRETLING S. Low intake of polycyclic aromatic hydrocarbons in Sweden:results based on market basket data and a barbecue study[J]. **Food and Chemical Toxicology**,2014,74:107-111.

[6] AHMED M T,MALHAT F,LOUTFY N. Residue levels,profiles,emission source and daily intake of polycyclic aromatic hydrocarbons based on smoked fish consumption,an egyptian pilot study [J]. **Polycyclic Aromatic Compounds**,2016,36(3):183-196.

[7] RONCO A L,DE STEFANI E,CORREA P,et al. Dietary benzo [a]pyrene,alcohol drinking,and risk of breast cancer:acase-control study in Uruguay[J]. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**,2011,12:1463-1467.

[8] ZHANG Y,ZOU H Y,SHI P,et al. Determination of benzo [a]pyrene in cigarette mainstream smoke by using mid-infrared spectroscopy associated with a novel chemometric algorithm[J]. **Analytica Chimica Acta**,2016,902:43-49.

[9] ZHANG M,XIE J F,WANG Z T,et al. Determination and source identification of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in PM2.5 in Taiyuan[J]. **China Atmospheric Research**,2016,178:401-414.

[10] WU Dan. The harm and prevention measures of benzopyrene pollution in food [J]. **Science and Technology of Food Industry**,2008,5:309-311.(in Chinese)

[11] 袁海艳,涂白杰. 苯并[a]芘神经毒性及其在脑组织中分别的研究[D]. 重庆:重庆医科大学,2009:1-55.

[12] LI Yonghe. 3,4-Benzo(a)pyrene in cereals and food contamination[J]. **Grain Science and Technology and Economy**,1997,4:37-38 .(in Chinese)

[13] QUAN Meiping，WU Mengyao. Hazardness and control measures of benzo [a]pyrene in smoked and roasted meat product[J]. **Amino Acids & Biotic Resources**，2012，34(3)：66-68.(in Chinese)
[14] LIN Jing，LI Dazhu. Pyroptosis：a caspase-1-dependent cell death[J]. **International Journal of Immunology**，2011，34(3)：213-216.(in Chinese)
[15] XIN Weiping. Benzopyrene's Carcinogenicity and rapid detection[J]. **Meathygiene**，2000(2)：16-17.
[16] VASILUK L，PINTO L J，TSANG W S，et al. The uptake and metabolism of benzo (a)pyrene from a sample food substrate in an in vitro model of digestion[J]. **Food and Chemical Toxicology**，2008，46(2)：610-618.
[17] LIU Y，LIU L B，LIN J M，et al. Distributiong and characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in airborne particulates of east Asia[J]. **China Particuology**，2006，4(6)：283-292.
[18] KIRA S，KATSUSE T，NOGAMI Y，et al. Measurement of benzo (a)pyrene in sea water and in mussels in the Seto Inland Sea，Japan[J]. **Environmental Contamination and Toxicology**，2000，65：631-637.
[19] ZHANG Dan，YAN Chonghuai. The research progress of pahs compounds in biological monitoring[J]. **Foreign Medicine：Hygiene Fascicle**，2008，35(1)：28-31.(in Chinese)
[20] SHI Qiaoqiao，XI Jun，LU Qiyu. Research progress in benzopyrene in foods[J]. **Science and Technology of Food Industry**，2014(5)：379-381.(in Chinese)
[21] WANG Xin，ZHOU Zhihui，ZHAO Xiaolian. The harm and its detection techniques of benzopyrene[J]. **Cereals & Oils**，2011(3)：48-49.(in Chinese)
[22] WHO-IRAC. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans[J]. **IARC Monographs**，2010：92(3)：367-387.
[23] ZHENG R，WANG C，ZHAO Y，et al. Effect of tributyltin，benzo(α)pyrene and their mixture exposure on the sex hormone levels in gonads of cuvier(*Sebastiscus marmoratus*)[J]. **Environ Toxicol Pharnacol**，2005，20(2)：361-367.
[24] WAKX A，REGAZZETTI A，DARGERE D，et al. New in vitro biomarkers to detect toxicity in human placental cells：the example of benzo[α]pyrene[J]. **Toxicology in Vitro**，2016，32：76-85.
[25] WORMLEY D D，RAMESH A，HOOD D B. Environmental contaminant-mixture effects on CNS development，plasticity，and behavior[J]. **Toxicol Appl Pharmacol**，2004，197(1)：49-65.
[26] 王春光. 苯并(α)芘暴露对真鲷(*Pagrus major*)细胞 DNA 的损伤及肝脏 P4501A1 的毒性效应[D]. 厦门：厦门大学，2006：1-63.
[27] 陈婴君. 苯并芘诱导 Hela 细胞 DNA 损伤的核蛋白组学分析[D]. 杭州：浙江大学，2012：1-59.
[28] BO XIA，LI PANG，ZHI-XIONG ZHUANG，et al. Biotin-mediated epigenetic modifications：potential defense against the carcinogenicity of benzo[a]pyrene[J]. **Toxicology Letters**，2016，241：216-224.
[29] HARREUS U A，KLEINSASSER N H，ZIEGER S，et al. A. Sensitivity to DNA-damage induction and chromosomal alterations in mucosa cells from patients with and without cancer of the oropharynx detected by a combination of Comet assay and fluorescence in situ hybridization[J]. **Mutation Research**，2014，563(2)：131-138.
[30] HSU G，HUANG X，LUNEVA N P，BEESE L S. Structure of a high fidelity DNA polymerase boundto a benzo [a]pyrene adduct that blocks replication[J]. **Journal of Biological Chemistry**，2005，280(5)：3764-3770.
[31] JIANG Y，CHEN X，YANG G，et al. BaP-induced DNA damage initiated p53-independent necroptosis via the mitochondrial pathway involving Bax and Bcl-2[J]. **Human & Experimental Toxicology**，2013，32(12)：1245-1257.
[32] KRAIS A M，SPEKSNIJDER E N，MELIS J P M，et al. The impact of p53 on DNA damage and metabolic activation of the environmental carcinogen benzo [a]pyrene：effects in Trp53 (+/ plus)，Trp53 (+/-) and Trp53 (-/-) mice [J]. **Archives of Toxicology**，2016，90(4)：839-851.
[33] LI Zejun，HU Dan，XIONG Kezhao，et al. A brief overview between reactive oxygen species and mitochondrial injury[J]. **Central South Pharmacy**，2014，12(10)：989-993.(in Chinese)
[34] BRAS M，QUEENA B，SUSIN S A. Programmed cell death via mitochondria：different modes of dying [J]. **Biochemistry (Mosc)**，2005，70(2)：231-239.
[35] KO C B，KIM S J，PARK C，et al. Benzo (a)pyrene-induced apoptotic death of mouse hepatoma Hepa1c1c7 cells via activation of intrinsic caspase cascade and mitochondrial dysfunction[J]. **Toxicology**，2004，1991(1)：35-46.

[36] 孙政. 苯并(α)芘对人支气管上皮细胞 BEAS-2B 线粒体损伤的研究[D]. 昆明:昆明医科大学,2012:1-55.
[37] CORY S,ADAMS J M. The Bcl2 family:regulators of the cellular life-or-death switch[J]. **Nat Rev Cancer**,2002,2(9):647-656.
[38] DAS S,DAS J,SAMADDER A,et al. Efficacy of PLGA-loaded apigenin nanoparticles in Benzo [α]pyrene and ultraviolet-B induced skin cancer of mice:Mitochondria mediated apoptotic signalling cascades [J]. **Food and Chemical Toxicology**,2013,62:670-680.
[39] LAN Changbo. MAE-GC/MS determination foods B(α)P content[J]. **Food and Drug Control of Guangxi Liuzhou**,2014,33(12):1332-1337.
[40] KHANIYAN M,SALAMAT N,Safahieh A,et al. Detection of benzo [a]pyrene-induced immunotoxicity in orange spotted grouper(*Epinephelus coioides*)[J]. **Environ Toxicol**,2016,31(3):329-338.
[41] XIONG Shanshan,SHI Yingying,SHI Hanping. Research status of reactive oxygen species and tumor[J]. **Chin J Cancer Prev Treat**,2014,21(13):1045-1048.(in Chinese)
[42] RAN Maoliang,GAO HUAN,YIN JIE,et al. Oxidative stress and DNA damage[J]. **Chinese Journal of Animal Nutrition**,2013,25(10):2238-2245.(in Chinese)
[43] DENG X B,ZHANG F,RUI W,et al. PM2.5-induced oxidative stress triggers autophagy in human lung epithelial A549 cells[J]. **Toxicology in Vitro**,2013,27(6):1762-1770.
[44] HOLME J A,GORRIA M,ARLT V M,et al. Different mechanisms involved in apoptosis following exposure to benzo[a]pyrene in F258 and Hepa1c1c7 cells[J]. **Chem Biol Interact**,2007,167(1):41-55.
[45] CHEN C Z,JIANG X J,REN Y,et al. Arsenic trioxide co-exposure potentiates benzo (a) pyrene genotoxicity by enhancing the oxidative stress in human lung adenocarcinoma cell[J]. **Biological Trace Element Researc**h,2013,156(1-3):338-349.
[46] REDMANN M,DARLEY-USMAR V,ZHANG J H. The role of autophagy,mitophagy and lysosomal functions in modulating bioenergetics and survival in the context of redox and proteotoxic damage:implications for neurodegenerative diseases[J]. **Aging and Disease**,2016,7(2):150-162.
[47] KIRIYAMA Y,NOCHI H. The function of autophagy in neurodegenerative diseases[J]. **International Journal of Molecular Sciences**,2015,16(11):26797-26812.
[48] GANNON A M,STAMPFLI M R,FOSTER W G. Cigarette smoke exposure elicits increased autophagy and dysregulation of mitochondrial dynamics in murine granulosa cells[J]. **Biology of Reproduction**,2013,88(3).
[49] MORGANE G,TEKPI X,RISSEL M,et al. A new lactoferrin- and iron-dependent lysosomal death pathway is induced. by benzo [a]pyrene in hepatic epithelial cells[J]. **Toxicol Appl Pharmacol**,2008,228(2):212-224.
[50] 袁莉. 异荭草素对 HepG2 人肝癌细胞凋亡和自噬的作用及机制研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2014:1-132.
[51] 靳梦醒. 细胞自噬对 oxLDL 诱导巨噬细胞焦亡(pyroptosis)的影响及机制[D]. 合肥:安徽医科大学,2014:1-66.
[52] GUNAY E,CELIK S,SARINC-ULASLI S,et al. Comparison of the anti-inflammatory effects of proanthocyanidin,quercetin,and damnacanthal on benzo(a)pyrene exposed A549 alveolar cell line[J]. **Inflammation**,2016,39(2):744-751.
[53] HU T T,PAN Z Y,YU Q,et al. Benzo (a)pyrene induces interleukin (IL)-6 production and reduces lipid synthesis in human SZ95 sebocytes via the aryl hydrocarbon receptor signaling pathway[J]. **Environmental Toxicology and Pharmacology**,2016,43:54-60.
[54] LAKNAUR A,FOSTER T L,BOBB L E,et al. Altered expression of histone deacetylases,inflammatory cytokines and contractile-associated factors in uterine myometrium of Long Evans rats gestationally exposed to benzo[a]pyrene[J]. **Journal of Applied Toxicology**,2016,36(6)82:7-835.